

課題番号：SII-7-2

# 深海大型生物相の環境DNAによる モニタリング法の開発

プロジェクトリーダー：宮 正樹

プロジェクト代表機関：千葉県立中央博物館

体系的番号：JPMEERF20S20720

研究実施期間：令和2年度～4年度

研究体制：神戸大学大学院・国立環境研究所生物生態系環境研究センター・沖縄美ら島財団  
総合研究センター・京都大学

## 【SII-7-2 (1)】サブテーマ1

脊椎動物における調査方法の開発と実践，ならびに基盤データの整備

宮 正樹（千葉県立中央博物館）

馬淵浩司（国立環境研究所）

岡慎一郎（沖縄美ら島財団）

---

## 【SII-7-2 (2)】サブテーマ2

無脊椎動物における調査方法の開発と実践，ならびに基盤データの整備

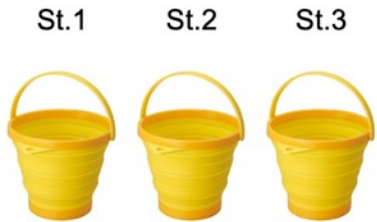
源 利文（神戸大学大学院）

駒井智幸（千葉県立中央博物館）

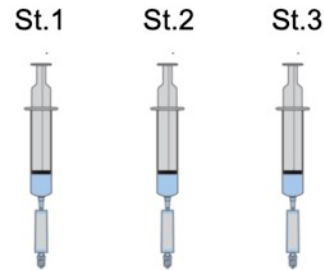
中野智之（京都大学）

# 1. 研究開発背景：環境DNAメタバーコーディング法

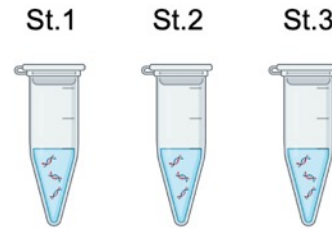
## ① 採水



## ② ろ過



## ③ DNA抽出

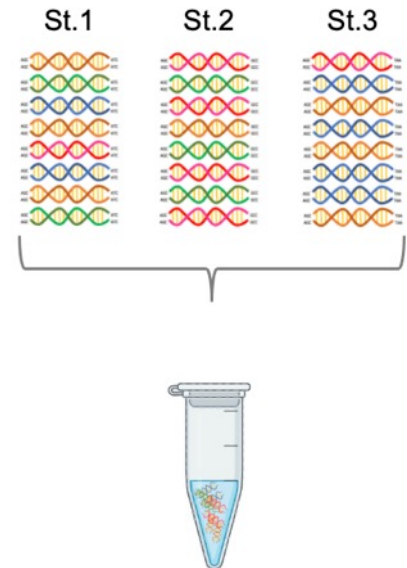
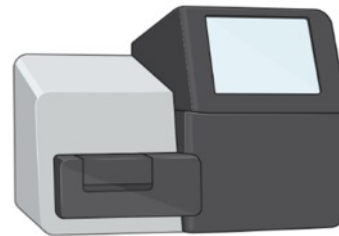


## ④ DNA増幅・加工

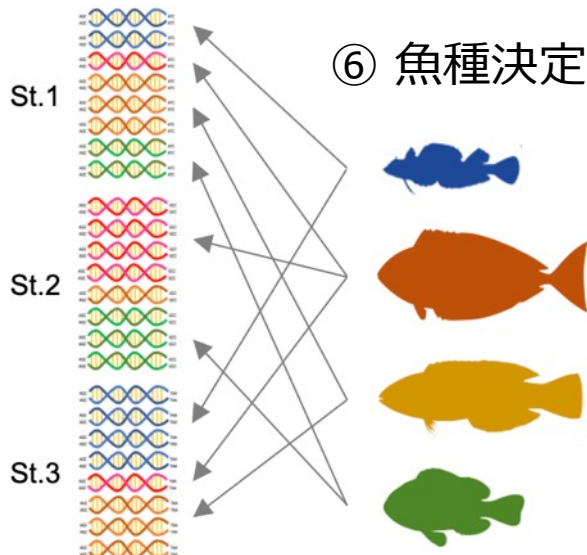


魚類DNAは環境DNA全体の0.004%  
25,000本のうちのたった1本

## ⑤ DNA配列決定

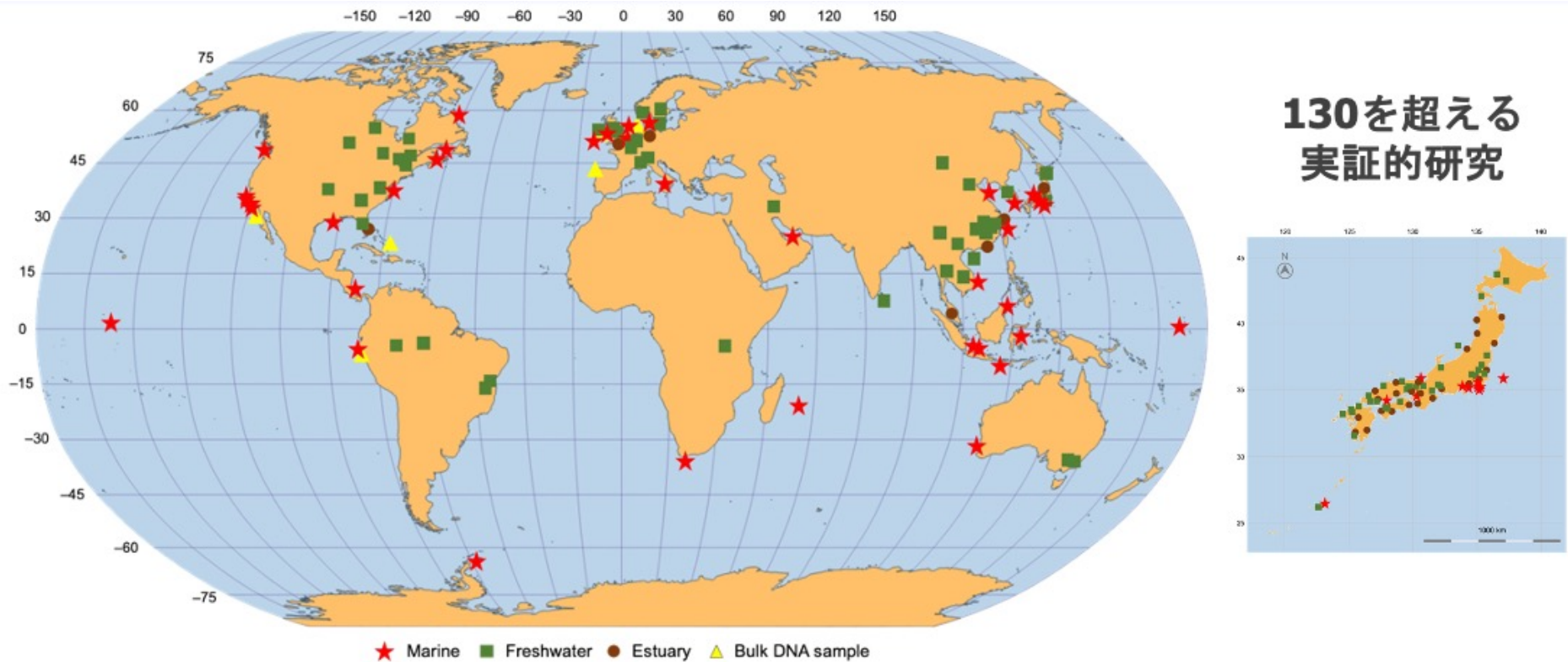


## ⑥ 魚種決定



# 1. 研究開発背景：環境DNAメタバーコーディング法

MiFish法 (Miya et al. 2015) を用いた研究の地理分布 (被引用件数 = 832)



## 2. 研究開発目的

---

### ◆ 環境DNAメタバーコーディング法の確立

- ・ 深海性脊椎動物（魚類）

MiFish法の至適化

- ・ 深海性無脊椎動物（刺胞動物・甲殻類・棘皮動物・軟体動物）

新規手法の開発・MiDeca法のターゲット拡大（+脚甲殻類以外）

- ・ 種査定の精度を上げるためのリファレンス配列の充実

標本と紐付けたDNA塩基配列の取得

### ◆ 環境DNAを用いた多様性モニタリング法の提案

- ・ 生物多様性重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング法の提案

### ◆ 環境省への技術移転

- ・ 実験技法のマニュアル化と技術提供

### 3. 研究目標

環境DNAを用いた深海性大型動物のメタバーコーディング法（同時並列多種検出法）を脊椎動物と無脊椎動物の代表的分類群に対して開発し、沖合海底自然環境保全地域における継続的な種多様性モニタリングを可能にする。具体的には以下の通りになる。

- ① 代表的分類群(魚類・刺胞動物・甲殻類・棘皮動物・軟体動物)を対象としたPCRプライマーを開発・既存のプライマーを至適化すると同時に、それぞれのプライマーについての実験条件を確立する。
- ② 上記の分類群について、同定された標本と紐づけたDNAのシークエンス情報を取得し、リファレンス配列を充実させる。関連して、次世代シークエンサーから出力されたデータを処理する解析パイプラインを構築し、種判別精度を高めるとともに、リファレンスの不足により種の同定が困難なデータについて、種に相当する遺伝子配列の分類単位をまとめる手法を確立する。
- ③ 全国各地の海洋深層水で得られた環境DNAを分析することにより、深海性魚類を中心とする生物群集の時空間動態を明らかにする。
- ④ 実海域から得られた各分類群の環境DNAを本研究で確立する手法により分析し、データから重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング項目についての情報を取得する。
- ⑤ 以上で得られた各種技術を環境省へ移転し、海洋保護区(沖合海底自然環境保全地域)の継続的で効率的なモニタリングを可能にする。

## 4. 研究開発内容（サブテーマ1）

---

### 1) 魚類を対象とした実験手法の効率化

- ・ 深海性魚類の12S rRNA塩基配列の収集とMiFishプライマー配列との比較照合
- ・ ターゲット領域の増幅における新たな耐熱性ポリメラーゼ（SuperFi II）の使用

### 2) リファレンス配列の充実と解析パイプラインの構築

- ・ 文献調査に基づく日本産深海性魚類のリストアップとリファレンスデータの充実
- ・ 次世代シーケンサ固有のエラー配列を自動補正する解析パイプラインの開発

### 3) 海洋深層水を用いた深海性魚類の検出

- ・ 5つの汲み上げ施設から得られた環境DNAを用いたMiFish法による深海性魚類の検出
- ・ 深海性魚類群集の多様性解析と時空間分析

### 4) 実海域サンプルを用いた魚類群集解析

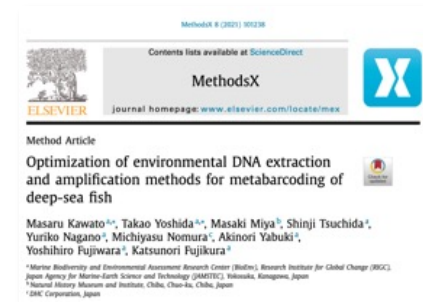
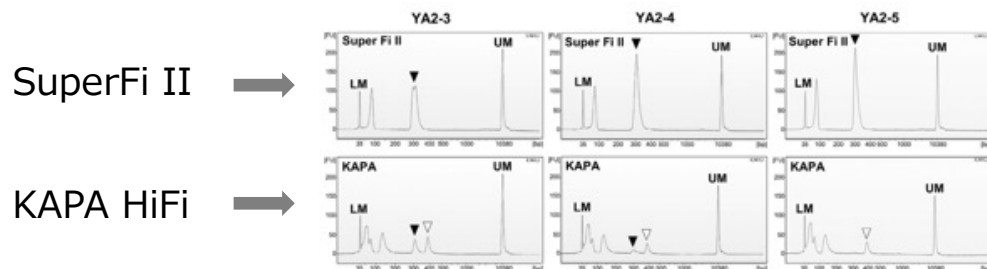
- ・ 7つの海山と駿河湾奥から得られた環境DNAを用いたMiFish法による深海性魚類の検出
- ・ 深海性魚類群集の多様性解析と生物多様性解析と空間分析

### 5) 実験手法のマニュアル化と環境省への技術移転

- ・ MiFish法とデータ解析

# 5-1. 研究成果の概要 (サブテーマ 1-1)

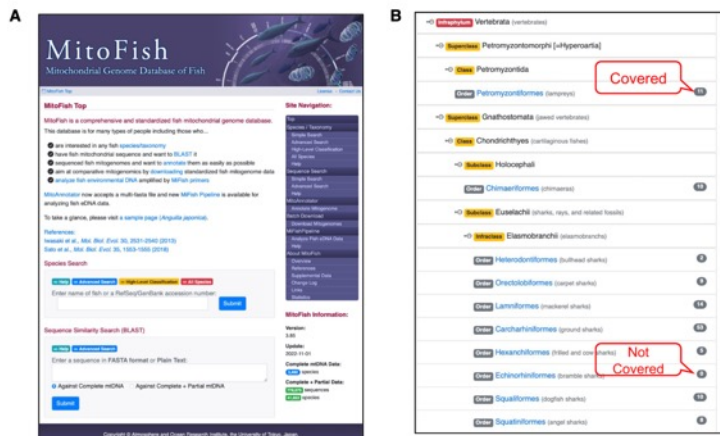
## 1) 魚類を対象とした実験手法の効率化



Kawato et al. (2021) *MethodsX* 8:101238

## 2) リファレンス配列の充実と解析パイプラインの構築

日本産深海魚1,302種の65.6%に相当する856種を網羅 (34目・185科・479属)



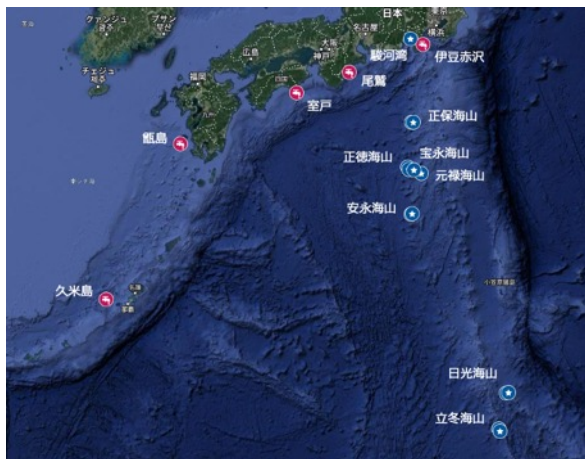
Zhu et al. (2023) *Mol Biol Evol* 43:msad035

エラー配列を自動補正する新たな解析パイプラインをMitoFishデータベースに搭載

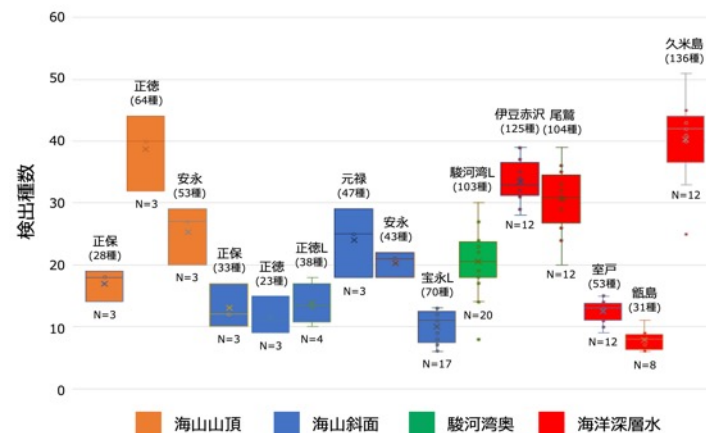


# 5-1. 研究成果の概要 (サブテーマ 1-2)

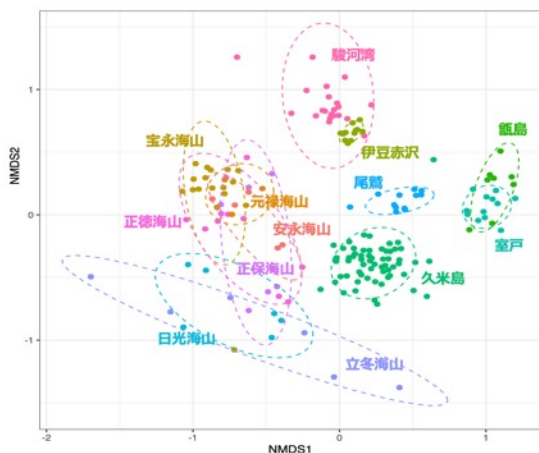
## 3/4) 海洋深層水と実海域サンプルを用いた深海性魚類の検出



① 深層水採取地点



② 各地点で検出種数のバラツキ



③ NMDSによる魚類群集の違い



④ 大型高次捕食者ヨコヅナイワシの検出

# 5-1. 研究成果の概要 (サブテーマ 1-3)

## 5) 実験手法のマニュアル化と環境省への技術移転

環境研究総合推進費 戦略的研究開発 (SII-7)

新たな海洋保護区 (沖合海底自然環境保全地域) 管理のための深海を対象とした  
生物多様性モニタリング技術開発

沖合海底自然環境保全地域 (海洋保護区) を対象とした  
深海生態系のモニタリング方法  
(海底設置型フリーフォール式ランダーおよび画像を用いて)

マニュアル

2023年3月

海洋研究開発機構  
千葉県立中央博物館  
東京大学  
国立環境研究所  
美ら島財団  
神戸大学  
京都大学  
熊本大学

- 5.3.3. MiFish メタバーコーディング--- 67
  - 5.3.3.1. ライブラリーの調整① 1st PCR--- 67
    - 5.3.3.1.1. 1st PCR--- 68
    - 5.3.3.1.2. 1st PCR 産物の精製と濃縮--- 69
    - 5.3.3.1.3. 精製・濃縮済み1st PCR産物の定量と希釈--- 69
  - 5.3.3.2. ライブラリーの調整② 2nd PCR--- 70
    - 5.3.3.2.1. 2nd PCR--- 71
    - 5.3.3.2.2. 2nd PCR 産物の切り出し--- 73
    - 5.3.3.2.3. 切り出した 2nd PCR 産物の定量--- 73
    - 5.3.3.2.4. インデクス関連情報--- 74
  - 5.3.3.3. MiSeq を用いた超並列シーケンス--- 75
    - 5.3.3.3.1. MiSeq のメンテナンス--- 75
    - 5.3.3.3.2. シーケンスの下準備--- 76
    - 5.3.3.3.3. ライブラリー濃度の最終調整--- 76
    - 5.3.3.3.4. シーケンス開始前後の操作--- 77
- 5.3.4. データ解析(usearch)--- 78
  - 5.3.4.1. 得られたリードのアセンブル--- 78
  - 5.3.4.2. プライマー配列の除去--- 78
  - 5.3.4.3. クオリティフィルタリング--- 78
  - 5.3.4.4. 合同配列をまとめる--- 78
  - 5.3.4.5. denoiseしてASVsの作成--- 78
  - 5.3.4.6. リファレンスDBに参照した種の割り当て--- 78

## 4. 研究開発内容（サブテーマ2）

---

### 1) 無脊椎動物を対象とした環境DNA分析用のプライマーの設計

- ・ 花虫綱、鉢虫綱、棘皮動物、クモヒトデ綱、ウミユリ綱、貝類、頭足綱の新規プライマー設計
- ・ 水族館の水槽水や海洋深層水を用いた新規プライマーのテスト

### 2) 海水サンプルを対象とした環境DNA保存法の至適化

- ・ 保存法や抽出法の改良による環境DNA収量の増加

### 3) 海洋深層水を用いた深海性無脊椎動物の検出

- ・ 5つの汲み上げ施設から得られた環境DNAを用いた新規プライマーによる無脊椎動物の検出
- ・ 深海性無脊椎動物群集の多様性解析と空間分析

### 4) 実海域サンプルを用いた無脊椎動物解析

- ・ 実海域の環境DNAを用いた新規プライマーによるによる深海性無脊椎動物の検出
- ・ 深海性無脊椎動物群集の多様性解析と空間分析

### 5) リファレンス配列の整備

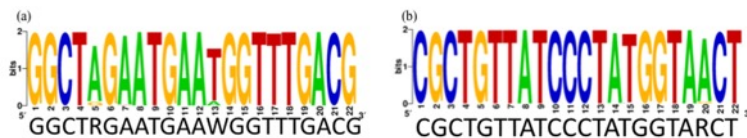
- ・ 無脊椎動物標本の収集とリファレンス配列の整備

### 6) 実験手法のマニュアル化と環境省への技術移転

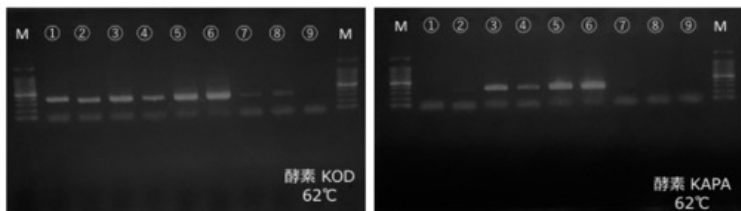
- ・ 無脊椎動物の環境DNAメタバーコーディング法（DNA抽出から種決定まで）

# 5-1. 研究成果の概要 (サブテーマ 2-1)

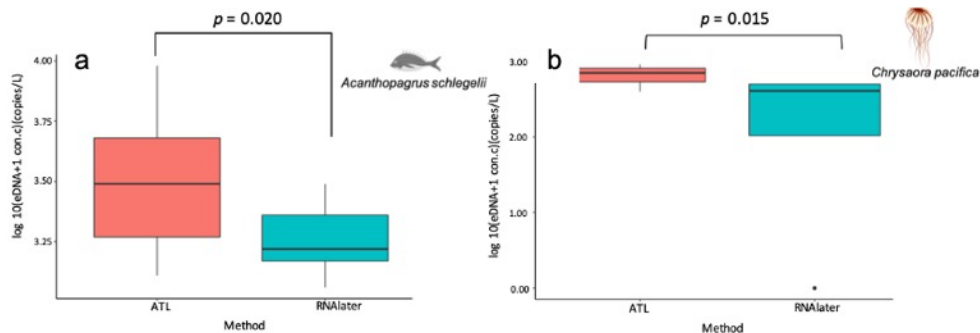
## 1/2) 無脊椎動物を対象とした環境DNA分析用のプライマーの設計・DNAの保存法



新規プライマーの開発 (頭足類)



使用酵素による増幅の違い (KOD vs KAPA)



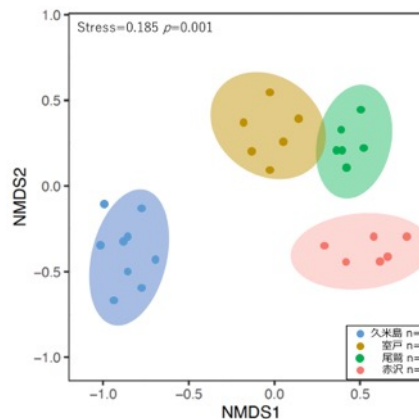
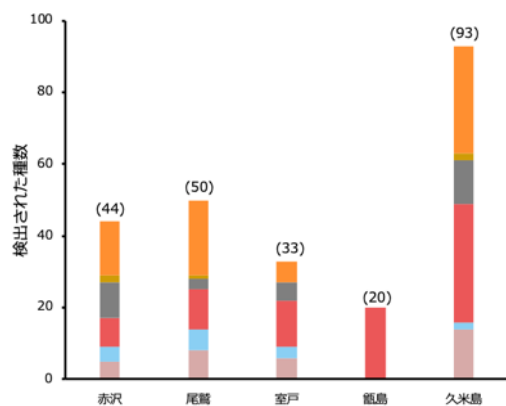
保存法によるDNA収量の違い (RNAlater vs Buffer ATL; Wu & Minamoto 2023)

## 5) リファレンス配列の整備

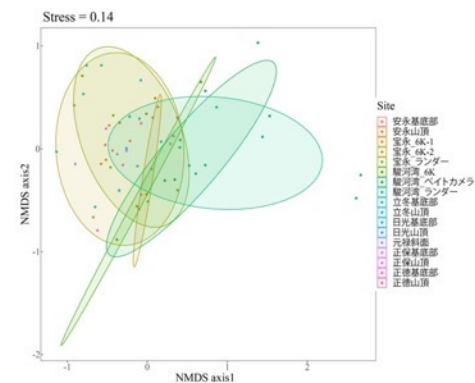
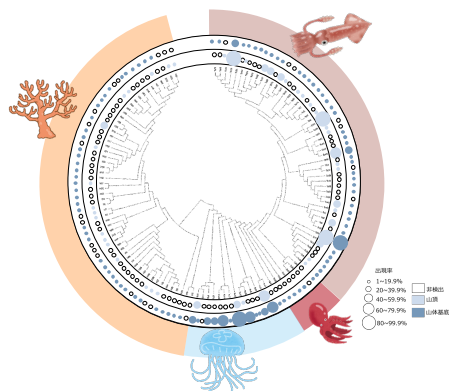
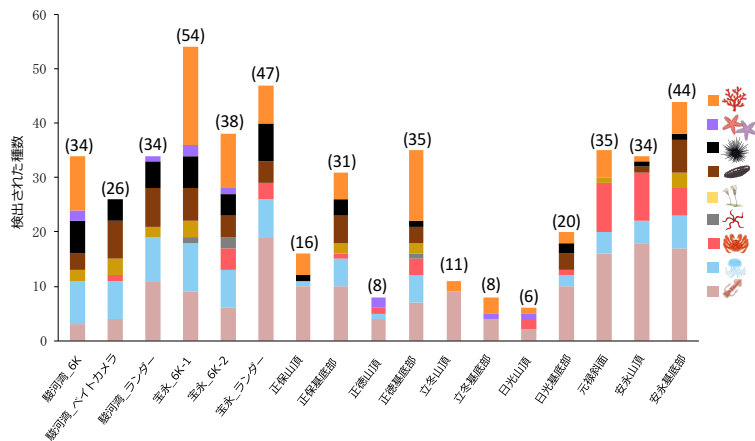
3年間にわたって十脚目910種、端脚目3種、等脚目4種、頭足綱17種、クモヒトデ綱24種、腹足綱133種、二枚貝綱12種、棘皮動物132種などの合計1,235種のリファレンス配列を新たに取得した。この結果、既存のデータと合わせ、本研究で対象とする分類群の主要な目 (甲殻類は亜目) 48目 (亜目) のうち46目 (亜目) について、代表的な種のデータが1件以上利用可能となり、環境DNAで検出された種を少なくとも目レベル同定できる体制が整い、主要分類群に関しては科レベルの同定が可能になった。

# 5-1. 研究成果の概要 (サブテーマ 2-2)

## 3/4) 海洋深層水と実海域サンプルを用いた深海性無脊椎動物の検出



海洋深層水から検出された主要無脊椎動物群の種数と群集の違い



実海域から検出された主要無脊椎動物群の種数、群集組成、群集組成の違い

# 5-1. 研究成果の概要 (サブテーマ 2-3)

## 6) 実験手法のマニュアル化と環境省への技術移転

環境研究総合推進費 戦略的研究開発 (SII-7)

新たな海洋保護区 (沖合海底自然環境保全地域) 管理のための深海を対象とした  
生物多様性モニタリング技術開発

沖合海底自然環境保全地域 (海洋保護区) を対象とした  
深海生態系のモニタリング方法  
(海底設置型フリーフォール式ランダーおよび画像を用いて)

マニュアル

2023年3月

海洋研究開発機構  
千葉県立中央博物館  
東京大学  
国立環境研究所  
美ら島財団  
神戸大学  
京都大学  
熊本大学

- 5.4. 無脊椎動物の環境DNAメタバーコーディング法 (DNA抽出から種決定まで) (源 利文・鵜 倩 倩) --- 77
  - 5.4.1. サンプルの保存法 (RNAlater法とATL法) --- 79
  - 5.4.2. 実験室への輸送--- 79
  - 5.4.3. ステリベクスからのDNA抽出 --- 79
    - 5.4.3.1. 実験の準備--- 79
    - 5.4.3.2. DNeasy Blood & Tissue kit を用いたDNAの抽出 (RNAlater法とATL法) --- 79
  - 5.4.4. 無脊椎動物の環境DNAメタバーコーディング--- 81
    - 5.4.4.1. ライブラリー調整①:1st PCR--- 81
      - 5.4.4.1.1. 1st PCR--- 81
      - 5.4.4.1.2. 1st PCR産物のビーズ精製 (サイズセレクション) --- 83
      - 5.4.4.1.3. 精製済みの1st PCR産物の濃度測定と希釈--- 84
    - 5.4.4.2. ライブラリーの調整②:2nd PCR--- 84
      - 5.4.4.2.1. 2nd PCR--- 84
      - 5.4.4.2.2. E-Gel Power Snap Electrophoresis Device (G8100, Invitrogen) を用いた2nd PCR産物の精製 (サイズセレクション) --- 84
      - 5.4.4.2.3. 切り出した2nd PCR産物の質の確認と濃度測定--- 85
  - 5.4.5. MiSeqまたはiSeq100を用いた超並列シーケンス--- 85
    - 5.4.5.1. 下準備 (キットの解凍) --- 85
    - 5.4.5.2. ライブラリー濃度の最終調整及び濃縮--- 85
    - 5.4.5.3. シークエンス開始前後の操作--- 85
  - 5.4.6. データ解析 (usearch) --- 86
    - 5.4.6.1. 得られたリードのアセンブル (ペアエンドの場合) --- 86
    - 5.4.6.2. プライマー配列の除去--- 86
    - 5.4.6.3. クオリティフィルタリング--- 86
    - 5.4.6.4. 合同配列をまとめる--- 86
    - 5.4.6.5. denoiseしてASVsの作成--- 86
    - 5.4.6.6. リファレンスDBに参照した種の割り当て--- 86
    - 5.4.6.7. 得られたリードのアセンブル (片側の場合) --- 87

## 5-2. 環境政策等への貢献（1）

### <行政等が既に活用した成果>

- 本課題で深海性魚類に至適化されたMiFish法については、**環境省**が二次的自然環境における調査に既に幅広く利用している。また、環境省は「環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き」を作成して公開している([https://www.biodic.go.jp/edna/reports/fwfish\\_tebiki1.pdf](https://www.biodic.go.jp/edna/reports/fwfish_tebiki1.pdf))。この手引きは継続的に改訂されており、現在第2版が公開されている。
- 同様に、**国交省**の河川水辺の国勢調査のテーマ調査にMiFish法が導入済みで、R8年度からは本調査に導入する予定となっている（辻ほか 2021, 篠原ほか 2021, 河川技術論文集 27）。
- 同様に、**水産庁**の各研究所でMiFish法の試行テストが行われ、人工魚礁の効果検証（Sato et al. 2021, Scientific Reports 11:19477）や東京湾における魚類群集調査（Hongo et al. 2021, Regional Studies in Marine Sciences 47:101950）に本手法が用いられ、直接的手法（目視観察やネット採集）では不明だった魚類群集の時空間動態が明らかとなった。
- このような流れは**民間**にも波及しており、河川魚類群集の時空間変動を明らかにしたり（Suzuki et al. 2022, Limnologica 93:125955）、環境RNAを利用したMiFish法を開発することによって誤検出の確率を低下させたり（Miyata et al. 2021, Ecological Indicator 158: 107796）などの大きな成果を上げている。

## 5-2. 環境政策等への貢献 (2)

### <行政等が活用することが見込まれる成果>

- サブテーマ1と2では、SII-7-2の参画者以外でも再現性の高い実験結果が得られるように、魚類と無脊椎動物を対象とした環境DNAメタバーコーディングの実験マニュアルを作成した。本マニュアルは、本プロジェクト終了以降に沖合海底自然環境保全地域のモニタリングが継続的に実施されるにあたり、有効活用されることになる見込みである。
- 上記マニュアルに記載された内容（とくにMiFish法）については、環境DNA学会が発行する英文マニュアルに準拠したもので、この英文マニュアルは世界各国で幅広く利用されている。たとえば**米国大気海洋局 (NOAA)** を中心とするメンバーは、米国沿岸・沖合におけるMiFish法による研究成果を出した。同様に、**国連教育科学文化機関 (UNESCO)** が2023年から進める「海洋世界遺産20海域の魚類相調査プロジェクト」では、本課題で実施した研究成果に基づき魚類群集モニタリングにおけるMiFish法の優位性が示された結果、本手法が標準法として採用される見込みとなった。
- カナダのゲルフ大学 M. Hajibabaei 准教授が主導して、**International eDNA Standardization Task Force (iESTF)** 立ち上げの準備が進められている。環境DNAメタバーコーディングを生物多様性モニタリング手法としてISO化を試みるのが主眼となっており、この会合にはサブテーマ2の研究代表者である源博士がメンバーとして加わっている。MiFish法を含む各種環境DNA実験手法の国際標準化に取り組むことになっている。



## 5-3. 研究目標の達成状況（全体目標）

### 5つの全体目標

- 1) 代表的分類群（魚類・刺胞動物・甲殻類・棘皮動物・軟体動物）を対象としたプライマーを開発・既存のプライマーを最適化すると同時に、それぞれのプライマーについての実験条件を確立する。
- 2) 上記の分類群について、同定された標本と紐づけたDNAのシークエンス情報を取得し、リファレンス配列を充実させる。関連して、次世代シークエンサーから出力されたデータを処理する解析パイプラインを構築し、種判別精度を高めるとともに、リファレンスの不足により種の同定が困難なデータについて、種に相当する遺伝子配列の分類単位をまとめる手法を確立する。
- 3) 全国各地の海洋深層水で得られた環境DNAを分析することにより、深海性魚類を中心とする生物群集の時空間動態を明らかにする。
- 4) 実海域から得られた各分類群の環境DNAを本研究で確立する手法により分析し、データから重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング項目についての情報を取得する。
- 5) 以上で得られた各種技術を環境省へ移転し、海洋保護区（沖合海底自然環境保全地域）の継続的で効率的なモニタリングを可能にする。

### すべて目標通りの成果を上げた

代表的分類群のプライマーを設計し、実験条件を確立した。回収率を上げる環境DNAの保存法や、希薄な環境DNAの効率的増幅法の開発など、環境DNAを用いた深海大型生物の検出技術が格段に高まった。

魚類と無脊椎動物について、ほとんどの分類群で科レベルの判定が可能なリファレンスデータを収集できた。また、エラー配列を自動補正する新たな解析パイプラインを開発することにより、精度の高い種判定が可能になった。このパイプラインから出力される系統樹に基づき、高次分類群レベルの帰属が容易になった。さらに、このパイプラインをMitoFish上で公開することにより、誰でも利用できるようにした。

5つの汲み上げ施設の海洋深層水から多種多様な深海大型生物の検出に成功し、種多様性や群集組成に水平的(=地理的)・鉛直的な構造があることが明らかになった。

3回の調査航海で得られた実海域からの環境DNAから多種多様な深海大型生物の検出に成功し、重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング項目に関する情報が取得できることが明らかになった。

各種実験手法をマニュアル化することにより、再現性の高い実験が可能になった。これによって、海洋保護区の継続的なモニタリングが可能になる。

## 5-3. 研究目標の達成状況（サブテーマ1）

### 5つの個別目標

- 1) 既存のPCRプライマーを深海性分類群に対して最適化すると共に、海洋深層水を利用して採水・ろ過などのサンプル処理法やライブラリ調整等の実験法を確立する。
- 2) 標本とDNA塩基配列を紐付けた深海性分類群のリファレンスデータを充実させ、次世代シーケンサーから出力される大量データを処理する解析パイプラインを構築し、種判定精度を高める。
- 3) 全国各地の海洋深層水で得られた環境DNAを分析することにより、深海性魚類群集の時空間動態を明らかにする。
- 4) 海洋保護区（沖合海底自然環境保全地域）の設定が想定される水深ならびに実海域から得られた環境DNAを本研究で確立する手法により分析し、データから重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング項目についての情報を取得する。
- 5) 以上で得られた各種技術を環境省へ移転し、海洋保護区（沖合海底自然環境保全地域）の継続的で効率的なモニタリングを可能にする。

### すべて目標通りの成果を上げた

→ 深海性魚類が既存のプライマーで検出可能であることを確認し、海洋深層水を利用して実験法の至適化を行ったとくに新たなDNAポリメラーゼの採用は、希薄な深海魚の環境DNAを検出するのに効果的であった。

→ リファレンス配列を充実させた結果、深海性分類群1,302種の65.6%を網羅することができた。また、新たな解析パイプラインを開発して種判定制度を高め、データベースMitoFishに搭載して公開した。

→ 5つの汲み上げ施設の海洋深層水から多種多様な深海性魚類の検出に成功し、種多様性や群集組成の時空間動態を明らかにすることができた。

→ 3回の調査航海で得られた実海域からの環境DNAから多種多様な深海性魚類の検出に成功し、重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング項目に関する情報が取得できるようになった。大型高次捕食者であるヨコヅナイワシの検出は海洋保護区の保全に有用な情報を提供する。

→ 以上で確立された実験手法をマニュアル化することにより、再現性の高い実験が可能になった。これによって、海洋保護区の継続的なモニタリングが可能になる。

## 5-3. 研究目標の達成状況（サブテーマ2）

### 3つの個別目標

- 1) 刺胞動物（花虫綱、鉢虫綱）、甲殻類（十脚目、端脚目、等脚目）、棘皮動物（ヒトデ綱、ウニ綱、ナマコ綱、クモヒトデ綱、ウミユリ綱）、軟体動物（腹足綱、二枚貝綱、頭足綱）を対象としたプライマーを開発する。同時に、それぞれのプライマーを用いる際の実験条件を確立する。
- 2) 同定された標本と紐づいたDNAのシーケンス情報を取得し、リファレンス配列を充実させる。これに関連して、次世代シーケンサーから出力されたデータを処理する解析パイプラインを構築し、種判別精度を高めるとともに、リファレンスの不足により種の同定が困難なデータについて、種に相当する遺伝子配列の分類単位をまとめる手法を確立する。
- 3) 実水域で採集された環境DNAを本サブテーマで確立した手法を用いて解析し、サブテーマ1によって取得される脊椎動物のデータとあわせて、重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング項目についての情報を取得する。

### すべて目標通りの成果を上げた

すべての分類群でプライマーを開発し、実験条件を確立、深海サンプルへの適用に成功した。ただし、貝類については深海サンプルからの検出がなかったため今後の検討が必要である。また、DNAの新たな保存・抽出方法の開発に成功し、環境DNAサンプルからのDNA収量を倍程度に高めることができた。

合計1,235種の新たなリファレンス配列を取得し、代表的な分類群について目レベルでの同定が可能となった。また、不完全なリファレンス配列により種同定が困難なものについて、分類単位として遺伝子配列の使用が可能であることを示した。解析パイプラインについてはサブテーマ1で開発したスタンドアロン版を使うことで精度の高い種判定が可能になる。

実海域のサンプルから合計191種の無脊椎動物種のDNAの検出に成功し、検出種のリストから重要海域の抽出基準を踏まえたモニタリング項目に関する情報が得られることを示した。ダイオウイカのDNAが5箇所検出されるなど、希少種の情報を得られることが実証できた。

## 6. 研究成果の発表状況

### 6-1. 査読付き論文 (計13件)

- 1) Wu, Q., & Minamoto, T. (2023). Improvement of recovery yield of macro-organismal environmental DNA from seawater samples. *Analytical Sciences*. (In press.) (IF = 1.967)
- 2) Zhu, T., Sato, T., Sado, T., Miya, M. & Iwasaki, W. (2023). MitoFish, MitoAnnotator, and MiFish pipeline: updates in 10 years. *Molecular Biology and Evolution* 40(3): msad035. (IF = 8.800)
- 3) Komai, T., Tsuchida, S., Fujiwara, Y. (2023) A new deep-sea palaemonid shrimp assigned to *Periclimenes* Costa, 1844 (Decapoda: Caridea) from the West Mariana Ridge, northwestern Pacific. *Zootaxa* 5231(4): 376–392. (IF = 1.091)
- 4) Okanishi, M., Kohtsuka, H., Wu, Q., Shinji, J., Shibata, N., Tamada, T., Nakano, T., Minamoto, T. (2023). Development of two new sets of PCR primers for eDNA metabarcoding of brittle stars (Echinodermata, Ophiuroidea). *Metabarcoding & Metagenomics* 7: e94298. (h-index = 14)
- 5) Fujiwara, Y., Tsuchida, S., Kawato, M., Masuda, K., Sakaguchi, O.S., Sado, T., Miya, M. & Yoshida T. (2022). Detection of the largest deep-sea-endemic teleost fish at depths of over 2,000 m through a combination of eDNA metabarcoding and baited camera observations. *Frontiers in Marine Science* 9: 945758. (IF = 5.247)
- 6) Oka, S. I., Miya, M., & Sado, T. (2022). Gravity filtration of environmental DNA: A simple, fast, and power-free method. *MethodsX*, 9, 101838. (IF = 1.837)
- 7) Komai, T., Tsuchida, S., Fujiwara, Y. (2022). New record of a rarely collected caridean shrimp *Bathypalaemonella pandaloides* (Rathbun, 1906) (Decapoda: Bathypalaemonellidae) from the West Mariana Ridge, northwestern Pacific. *Zootaxa* 5129(2): 272–284. (IF = 1.091)
- 8) Miya, M. (2022). Environmental DNA metabarcoding: A novel method for biodiversity monitoring of marine fish communities. *Annual Review of Marine Science* 14: 161–185 (IF = 16.561)
- 9) Minamoto, T. (2022) Environmental DNA analysis for macro-organisms: Species distribution and more. *DNA Research*, 29: dsac018. (IF = 4.477)
- 10) Kawato, M., Yoshida, T., Miya, M., Tsuchida, S., Nagano, Y., Nomura, M., Yabuki, A., Fujiwara, Y. & Fujikura, K. (2021). Optimization of environmental DNA extraction and amplification methods for metabarcoding of deep-sea fish. *MethodsX* 8: 101238. (IF = 1.837)

## 6. 研究成果の発表状況

### 6-2. 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

### 6-3. その他発表件数

査読付き論文に準ずる成果発表 . . . . . 0件

その他誌上発表（査読なし） . . . . . 0件

口頭発表（学会等） . . . . . **11件**

Miya, M. "The mitogenomic contributions to molecular evolution and ecology of fishes: Revealing the patterns of diversity through space and time." Commemorative Symposium for the 38th International Prize for Biology. Okazaki Conference Center, Aichi, Japan. December 17, 2022 **（国際生物学賞シンポジウム）**

「国民との科学・技術対話」の実施 . . . . . **25件**

日本生態学会第24回公開講演会・環境DNAの衝撃「バケツ一杯の水からわかる世界の海や川の魚たち：MiFish法の概要と最新情報」（一般向け講演会、2021年3月21日、島根大学、受講者約200名）

マスコミ等への公表・報道等 . . . . . **22件以上**

朝日新聞（2022年7月1日「2.5メートルのヨコヅナイワシ ただならぬ圧 水深2千メートルで撮影成功 餌カゴがぶり」）

The Times（2022年7月1日 "Giant sumo fish lurking in deep off Japan is biggest ever found"）

本研究費の研究成果による受賞 . . . . . 0件

その他の成果発表 . . . . . 1件

# 6. 研究成果の発表状況（その他）

**GET!**  
角川の集める図鑑  
**魚** さかな

こんな魚見たことない!! カリブ海、深海、アマゾン川まで

世界の魚大集合!!

海底のミステリーサークルをつくる魚といえは?

気分はダイバー スマホで見られる世界の海・川 水中動画つき!

宮正樹 (千葉県立中央博物館主任 研究員)

KADOKAWA

**DNAが教えてくれた新発見**

環境DNA

環境DNAは魚のDNAを水から抽出して、PCRで増幅し、DNAマイクロアレイで検出する。

環境DNAは魚のDNAを水から抽出して、PCRで増幅し、DNAマイクロアレイで検出する。

**環境DNA調査を見てみよう!**

水でバケツですくろ

水から環境DNAを取り出す

環境DNAを分析して、魚の種類を特定する

魚種	環境DNA
サバ	環境DNA
アサギ	環境DNA
マサキ	環境DNA
アサギ	環境DNA
マサキ	環境DNA
アサギ	環境DNA
マサキ	環境DNA

**水深2000mより深い海**

深海の生態系

深海の生態系

深海の生態系

**GET!**  
角川の集める図鑑  
**魚** さかな

図鑑 GET! 魚が できるまで